

**Aus dem Veterinärhygienischen und Tierseuchen-Institut
der Justus Liebig-Universität in Giessen**

Direktor: Professor Dr. E. Roots

**Untersuchungen über die Beeinflussung des Blutbildes
und der elektrophoretisch feststellbaren Serumwerte
durch Injektion von Aluminiumhydroxyd mit und ohne
Zusatz eines bakteriellen Antigens**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

bei der Veterinär-Medizinischen Fakultät

der Justus Liebig-Universität zu Giessen

Vorgelegt von

Annemarie Ribbentrop, Veterinär-Praktikantin
aus Wetzlar

GIESSEN 1957

STANFORD-LANE MEDICAL LIBRARY

**Aus dem Veterinärhygienischen und Tierseuchen-Institut
der Justus Liebig-Universität in Giessen**

Direktor: Professor Dr. E. Roots

**Untersuchungen über die Beeinflussung des Blutbildes
und der elektrophoretisch feststellbaren Serumwerte
durch Injektion von Aluminiumhydroxyd mit und ohne
Zusatz eines bakteriellen Antigens**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

bei der Veterinär-Medizinischen Fakultät

der Justus Liebig-Universität zu Giessen

Vorgelegt von

Annemarie Ribbentrop, Veterinär-Praktikantin

aus Wetzlar

GIESSEN 1957

Mit Genehmigung der Veterinär - Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig - Universität in Giessen

Dekan : Professor Dr. Wetzel

1. Berichterstatter : Professor Dr. Roots

2. Berichterstatter : Professor Dr. Dr. Boguth

Tag der mündlichen Prüfung : 14. Dez. 1957

Inhaltsübersicht

	Seite
Einleitung	5
A. Schrifttum	6
1) Das Blutbild des Kaninchens	6
2) Antigen und Antikörperbildung	8
3) Die Elektrophoresewerte des Kaninchenserums	10
B. Eigene Untersuchungen	11
1) Versuchsplan	11
2) Versuchsmaterial und -technik	12
a) Versuchstiere, Antigene, Versuchsreihen	12
b) Technik der Ermittlung des Blutzellbildes	13
c) Technik der Elektrophorese	14
3) Ergebnisse der Versuche	16
a) Ergebnis der Bluthilduntersuchung	16
aa) Das Verhalten der Leukozyten	19
bb) Das Verhalten der spezialgranulierten Leukozyten	21
cc) Das Verhalten der Lymphozyten	23
b) Ergebnis der elektrophoretischen Serumwerte	24
aa) Berechnung der "R-Werte" des Kaninchenserums	24
bb) Das Verhalten des Gammaglobulins	27
4) Besprechung der Ergebnisse	29
5) Zusammenfassung	32
C. Literaturverzeichnis	33
D. Lebenslauf	36

Einleitung

Die Reaktion gesunder Kaninchen auf die parenterale Zufuhr artfremder Stoffe (Proteine, Polysaccharide, Lipide usw.) besteht in der Bildung neuer Eigenschaften des Blutes. Diese sind im Reagenzglasversuch als Antikörper (Antitoxine, Agglutinine, Präzipitine, komplementbindende Antikörper usw.) oder im Tierversuch (erhöhte Resistenz gegen Infektion, Allergie, usw.) nachweisbar. Schon frühzeitig (Joachim, 1903) wurde erkannt, daß die neuen Eigenschaften des Blutserums an dessen Globulinfraction gebunden waren. Die ursprüngliche Zerlegung des Serumweißes in Albumin, Erglobin und Pseudoglobulin durch Aussalzen wurde durch die Elektrophorese so einfach gestaltet, daß dieses Verfahren heute in der Biologie in breitem Umfange verwendet wird. Weiterhin kommt es auch zu Änderungen im Blutzellbild der geimpften Tiere.

Auf derartigen Reaktionen des Organismus beruht die künstliche Schutzverleihung gegen Infektionskrankheiten. Bei der aktiven Immunisierung mit lebenden Infektionserregern in abgeschwächter Form (Pasteur's Impfstoffe gegen Milzbrand, Rotlauf, usw.) oder in vollvirulenter Form zusammen mit Immenserum (Lorenz'sche Rotlauf-, Waldmann-Traub'sche Maul- und Klauenseuche-Impfung) kommt es zu einer milden Infektionskrankheit, in deren Verlauf dann durchweg ein gut wirksamer Schutz ausgebildet wird. Jedoch bildet die evtl. stattfindende Ausscheidung lebender Erreger eine ständige Gefahr für nicht geimpfte Organismen. Abgetötete Erreger erzeugen keine Krankheit, werden zumeist schnell resorbiert und rufen aber auch keine hohe Immunität hervor. Diese Nachteile versuchte man durch Verwendung einer Mischung toter Bakterien mit schwer oder garnicht resorbierbaren Stoffen (Adjuvantien) zu überwinden. Auf dieser Basis sind Impfungen gegen Rotlauf der Schweine und gegen die Maul- und Klauenseuche mit guten Ergebnissen durchgeführt worden. Die Meinungsdivergenz darüber, ob allein die gesetzte Entzündung des Gewebes, die durch die Adsorption der Erreger an die Adjuvantien hervorgerufene Wirkung oder endlich eine Umwandlung von Antigenen in Antigene hierbei von größerer Bedeutung sind, dürfte noch nicht völlig geklärt sein.

Dieses Problem lag einer Anregung von Herrn Professor Dr. Roots zugrunde, Kaninchen abgetötete Brucellen in physiologischer Kochsalzlösung ohne oder mit einem Zusatz von Aluminiumhydroxyd, sowie endlich dieses Adjuvans allein, entsprechend mit Kochsalzlösung verdünnt, intramuskulär zu injizieren. Von diesen Kaninchen sollten dann das Zellbild des Blutes, sowie die Agglutinationswerte und die elektrophoretisch nachweisbare Veränderung der Gammaglobulinfraction der Seren untersucht werden. Die Untersuchung auf Agglutinine bei den Tieren der obigen drei Gruppen war Gegenstand einer anderen Untersuchung, während mir der Nachweis der Gammaglobulinbewegung sowie die Änderungen des Zellbildes im Blute oblag.

A. Schrifttum

1) Das Blutbild des Kaninchens.

Von unseren Versuchstieren ist das Kaninchen hämatologisch wohl am umfangreichsten bearbeitet worden. Wiederholte Blutentnahmen lassen sich ohne Schwierigkeiten durchführen. Der Einfluß des Geschlechts, der Fütterung und Haltung zeigt nur ganz geringe Schwankungen. Das Alter der Tiere dahingegen spielt eine größere Rolle (Schermer, 1954).

Tatsächlich aber ist das Kaninchen in bezug auf sein Blutbild ein äusserst labiles Tier. Die von einzelnen Autoren (Klieneberger 1927, Schermer 1954, Wirth 1950) ermittelten Werte zeigen erstaunliche Unterschiede, die zum Teil auch auf einen verschieden starken Befall mit den bei Kaninchen verbreiteten Parasiten beruhen können (Coccidien, Rundwürmer, Ohrwürmer).

Die Zahl der Erythrozyten schwankt zwischen 4 und 6,4 Mill./cmm. Den größten Teil der Leukozyten (3800 - 12000) machen die spezialgranulierten polymorphkernigen Leukozyten aus, die früher wegen der roten Färbung der Granula mit Eosin als Pseudoeosinophile bezeichnet wurden und den Neutrophilen des Menschen gleichzusetzen sind. Die Eosinophilen sind durch ihre auffallende Größe und bronzefarbene Tönung gekennzeichnet. Weiterhin werden

die Basophilen, die Lymphozyten in verschiedenen Größen und schließlich die Monozyten unterschieden.

Im einzelnen sind bei Kaninchen folgende Werte festgestellt worden:

Tab. 1 Zell-Blutbild normaler Kaninchen

	Erythro- zyten	Leuko- zyten	Mono- zyten	Lympho- zyten	Eosino- phile Leukozyten	Baso- phile Leukozyten	Spezial- granul.
<u>Kliene- berger</u> (1927)	4,3-6,4	8150	2,5%	45,5%	0,5%	2,5%	50,5%
<u>Schermer</u> (1954)	4-6,4 Mill.	3800 -12000	1-4%	20-90%	1-3%	0,5-30%	8-50%
<u>Wirth</u> (1950)	4-6 .M ill.	8000	2,5%	55 %	1,5%	1 %	40 %

Das hämatopoetische System reagiert sehr stark auf entsprechende Reize. Schermer (1954) stellte fest, daß nach Injektion von "Pyrifer" zunächst ein Leukozytensturz eintrat, dem sich eine Lymphozytose anschloss. Nach 5 Stunden stieg die Zahl der Spezialgranulierten an, während die Lymphozyten noch weiter absanken. Bald darauf fielen die Granulozyten wieder ab, während die Lymphozyten stiegen. Nach ca. 80 Stunden waren die Ausgangswerte wieder erreicht.

Auch Ber (1938/39) spricht in einer Abhandlung von den drei Stadien des Blutbildes bei allen infektiösen Krankheiten - dem neutrophilen Stadium des Kampfes, dem monozytären der Verteidigung und dem lymphozytären der Genesung, wobei er das erste Stadium als Folge einer direkten Reizung des Knochenmarkes durch die im Blut kreisenden Keime oder ihre Abbauprodukte sieht. Die oft eintretende monozytäre Phase kann auch fehlen. Als Erklärung führt Ber an, daß die Monozyten ihre Tätigkeit an ihrem Produktionsorte ausüben und auch dort zerstört werden, d.h. daß sie vielleicht gar nicht erst ins periphere Blut gelangen.

2) Antigen und Antikörperbildung.

Die praktischen Schutzimpfungen (Jenner, Pasteur, Lorenz, Waldmann u.a.) gegen Infektionskrankheiten bestanden in der Injektion mit lebenden, in ihrer Virulenz abgeschwächten oder durch spezifische Immunseren in Grenzen gehaltene Erreger. Gegen Infektionskrankheiten des Menschen (Typhus, Cholera, Pest) wurden bald nach Pasteurs Tod (1895) Schutzimpfungen mit abgetöteten Bakterien üblich. Die damit aufgeworfene Frage, ob ein Schutz verliehen werden kann, ohne daß der Impfling eine, wenn auch nur milde Infektionskrankheit durchmacht, hat zu umfangreichen Untersuchungen Anlaß gegeben.

Im Verlaufe der Infektionskrankheit kommt es zu Entzündungen in Geweben, von denen namentlich auch das lymphatische System betroffen ist. Die Menge der bei der Krankheit wirksamen Bakterien ist ungeklärt; bewiesen ist jedoch, daß die Antikörperbildung von der Anzahl der in das Gewebe gelangten Bakterien abhängig ist. So waren z.B. 10000 Exemplare der *Salmonella schottmülleri*, die Kaninchen intravenös injiziert wurden, nicht imstande, Agglutininbildung auszulösen; bei 100000 Exemplaren traten Agglutinine auf und stiegen bei größeren Dosen an. Eine wiederholte Injektion, die vier bis fünf Monate nach der ersten erfolgte, verursachte einen um vielfaches höheren Anstieg des Titers als nach der ersten, wobei 1000000 Exemplare injiziert wurden. Selbst die nach vier Wochen erneut durchgeführte Injektion mit der bei einmaliger Injektion wirkungslosen Dosis (10000 Exemplare) hat einen nachweisbaren Anstieg der Agglutinine zur Folge (Wilson und Miles, 1955)

Wenn vergleichbare Ergebnisse erstrebt werden, erscheint es nach diesen Befunden angezeigt, eine bestimmte, nachweisbare Antikörperbildung bewirkende Dosis toter Bakterien nur einmal zu injizieren. Bei Tieren, die durch mehrmalige Injektion hochimmunisiert wurden, verwischen sich die Unterschiede in der Wirkung zwischen den Bakterienaufschwemmungen mit und ohne Adjuvans. Im Zusammenhang mit derselben Frage ist von Wilson und Miles (1955) auch erörtert worden, ob die im Reagenzglas nachweisbaren

Antikörper mit der spezifischen Resistenz gegen eine Infektion (Immunität s.str.) parallel gehen. Das Schrifttum (Wilson und Miles, 1955, Wadsworth, 1917 und Smith, 1932) ist hierüber uneinheitlicher Ansicht; manche Ergebnisse sprechen dafür, daß Impflinge hohe Antikörperwerte aufweisen können, ohne eine erhöhte Resistenz zu besitzen, sowie andere gegen Infektion immun sein können, ohne in ihrem Serum hohe Antikörpertiter aufzuweisen.

Bei Schutzimpfungen kann durch Wechsel des Gewebes, in das die Injektion erfolgt, oder durch Beigabe von Hilfsstoffen (Adjuvantien) der Schutz durch tote Erreger erhöht werden. Dies ist durch die Adsorbatvaccine gegen Rotlauf der Schweine (Traub, 1947, Roots 1948) und gegen Maul- und Klauenseuche (Waldmann, 1941) erwiesen. Die Wirkungsweise solcher Adjuvantien wird teils in einer Verzögerung der Resorption der gleichzeitig injizierten Bakterien, teils in einer durch jene Adjuvantien hervorgerufene Gewebsentzündung gesehen. Cohrs und Schulte (1951) stellten in den durch Aluminiuminjektion entstandenen Granulomen eine Gewebsentzündung fest, durch die Aluminiumpartikel mit adsorbierten Antigen örtlich fixiert wurden. Eisler und Eibl (1949), sowie Stöckl und Zachel (1952) fanden im peripheren Blut solcher Impflinge erhöhte Mengen Aluminium, woraus sie folgerten, daß das an Aluminiumpartikel adsorbierte Antigen abtransportiert und in die Zellen getragen wird, in denen die Antikörper gebildet werden. Diese Erklärung wird dadurch wahrscheinlich gemacht, daß Stöckl und Zachel fanden, daß das Maximum des Aluminiumgehaltes im Blut bereits überschritten ist, ehe die Antikörpermenge ihren Höhepunkt erreicht. Daß für den Grad der Adsorption die Größe der Oberfläche des Adsorbens eine große Rolle spielt, hat Henneberg (1956) dargelegt. Nach diesen Ergebnissen scheint die aktivierende Rolle des Aluminiumhydroxyds als Adsorbens auf einer micellaren Vergrößerung des Antigens zu beruhen. (Schmidt, 1955) Die Aluminiumhydroxyd-Adsorbatvaccine bedingt nach Stöckl und Zachel (1952) eine Steigerung des Gammaglobulins, die bei den Rindern wesentlich höher als bei den Pferden liegt.

3) Die Elektrophoresewerte des Kaninchenserums.

Im Schrifttum sind für Kaninchenserum folgende Werte der Elektrophorese festgestellt worden:

	Albumin%	α Globulin%	β Globulin%	γ Globulin%	verw. Meth.
<u>Sharp, Taylor, Beard</u> (1942)	58	8	14	20-25	Tiselius
<u>Deutsch</u> (1945)	63,3 $\pm$ 1,1	11,5 $\pm$ 0,8	13 $\pm$ 0,7	4,3 $\pm$ 0,3	"
<u>Edsall</u> (1947)	59,6	7,05	12	21,4	"
<u>Schlüter</u> (1951)	66-68	7-9	9-10	12-16	Antweiler
<u>Stürmer</u> (1951)	60-62	6-7	12	18	"
<u>Scheiffarth u. Berg</u> (1954)	62-72	10-12	9-12	8-13	Papierelektrophorese

Diese Übersicht über die in der Literatur angeführten Serumwerte des Kaninchenserums zeigt, wie groß die Schwankungen innerhalb der einzelnen Eiweißfraktionen sind. Sharp, Taylor und Beard sagen, daß es sehr schwierig sei, Normalwerte für Kaninchen aufzustellen. Schlüter (1951) sowie Stürmer (1951) sprechen von Individualkurven, d.h. jedes Kaninchen habe seine eigenen Proteinwerte und die daraus sich ergebende Normalkurve muß jeder vergleichenden Messung zugrunde gelegt werden. Eine Kontrolle eines Kaninchens über längere Zeit zeige aber eine Konstanz der Werte.

Die festgestellten Unterschiede können auf den verschiedenen Elektrophoreseverfahren beruhen, auf einem verschieden starken Befall der Kaninchen mit Parasiten, die bei dieser Tierart sehr verbreitet auftreten oder auf eine verschiedenartige Zerlegung des Pherogramms in Gauss'sche Kurven zurückzuführen sein. So fanden Scheiffarth und Berg sechs Einzelfraktionen (A , α_1 , α_2 , β_1 , β_2 , γ). Auch Sharp, Taylor und Beard spalteten

das β Globulin in zwei gelegentlich drei Komponenten. Sie schrieben weiter, daß das α Globulin schwierig vom Albumin zu trennen sei. Schlüter und Stürmer dahingegen zerlegen das Globulin in zwei Komponenten.

Die klinisch interessanteste ist wohl die Gammaglobulin-Fraktion, da sie 80 - 90 % der Immunglobuline enthält (Cohn, 1948) - Wichtig in diesem Zusammenhang sind auch die Untersuchungen von Tiselius (1939) und Heidelberger (1936) an gereinigten Antikörpern von verschiedenen Tierarten (Pferd, Kaninchen) gegen dieselben Antigene. Sie zeigten, daß von verschiedenen Species die Antikörperfunktion von verschiedenen Serumfraktionen gebildet wird, wobei Kaninchenantikörper elektrophoretisch identisch mit der Gammaglobulin-Komponente sind (Tiselius, 1939). Diese Ergebnisse weisen darauf hin, daß "bei der Antikörperentstehung kein neues, durch die Antigenezufuhr bedingtes Protein entsteht, sondern daß sich die genuinen Antikörper mit den an sich inaktiven Begleitproteinen des nativen Serums zu höher molekularen, immunologisch aktiven Komplexen vereinigen" (Schmidt, 1948/49).

B. Eigene Untersuchungen

1) Versuchsplan.

Das Ziel meiner Arbeit war die Feststellung, ob durch Injektion von *Brucella abortus* bei Kaninchen eine Erhöhung der Gammaglobulin-Werte des Blutserums oder eine Änderung des Blutzellbildes erreicht wird, wenn die Applikation der Bakterien einerseits in einer physiologisch nicht reizenden Lösung, andererseits in einer Lösung mit Zusatz eines Adjuvans erfolgt. Weiterhin sollte die Wirkung des Adjuvans ohne bakterielles Antigen untersucht werden. Ein Vergleich der Werte des Blutzellbildes und der Papierelektrophorese vor und nach der Injektion würde die Reaktion bei jedem der Versuchstiere erkennen lassen. Um diese Fragestellung von anderen Einflüssen frei zu halten, durften nur abgetötete Bakterien injiziert werden, wobei die Menge niedrig zu halten war, damit etwaige Unter-

schiede zwischen den Tieren mit verschiedenen Injektionsflüssigkeiten deutlich hervortraten. Aus bereits erwähnten Gründen mußte auch von einer Wiederholung der Injektion Abstand genommen werden; der Individualfaktor würde sich bei einer zweimaligen Injektion nur verstärkt auswirken können. Nach den allgemeinen Erfahrungen erschien die intramuskuläre Injektion für eine unter der Bezeichnung "Depotwirkung" zusammengefaßte Wirkungsweise des Adjuvans besonders geeignet.

Da Änderungen des Blutzellbildes und der Gammaglobulin-Fraktion nach allen Infektionen oder Invasionen auftreten, war eine grundlegende Voraussetzung, daß die Kaninchen völlig gesund, insbesondere frei von Coccidiose, Wurm- oder Räudebefall waren. Um Störungen durch den Oestrus hintanzuhalten, wurden männliche und weibliche Kaninchen verwendet, beide Geschlechter aber streng getrennt gehalten. Da die Kaninchen keinen festgelegten Geschlechtszyklus haben, erschien eine Störung infolge des Oestrus durch die Trennung ausreichend vermieden.

2) Versuchsmaterial und -technik.

a) Versuchstiere, Antigene, Versuchsreihen.

Zur Verfügung standen 24 Kaninchen im Gewicht von 2 - 2,5 kg, von den 12 männlichen und 12 weiblichen Geschlechts waren. Alle waren frei von Coccidiose, Wurmbefall und Ohrräude und zeigten auch sonst keinerlei Erscheinungen einer Krankheit. Injiziert wurde stets 1 ccm in die Muskulatur eines Hinterschenkels.

Die verwendeten Bakterien waren *Brucella abortus* eines Institutsstammes "3", die von 48-stündigen Kulturen auf Leber-Glycerin-Agar gewonnen waren. Abschwemmungen dieser Kulturen in physiologischer Kochsalzlösung wurden zur Abtötung 30 Minuten in einem Wasserbad von 70°C gehalten und anschließend zentrifugiert. Der Bodensatz wurde in Formalin (0,4%) - Kochsalz (0,85%) - Lösung aufgenommen. Diese Bakteriensuspension wurde auf die 10-fache Dichte einer einfachen Bariumsulfatsuspension (3 ccm 1%iges Bariumchlorid + 97 ccm 1%ige Schwefelsäure) eingestellt. -

as Aluminiumhydroxyd, bezogen von der Nitritfabrik A.G. München, Pannestr. 11, wurde 30 Minuten bei 100°C im Dampftopf sterilisiert.

Die Injektionsflüssigkeiten (Antigene) bestanden aus:

Antigen	Bakt.Suspens.	physiol.NaCl	Al(OH) ₃
A	0,75	-	0,25
B	0,75	0,25	-
Kontroll-	-	0,75	0,25

Um die Schwankungen zu erkennen, namentlich aber um den Arbeitsanfall auf eine größere Zeitspanne zu verteilen, wurden vier gleiche Versuchsreihen ange-
stellt, wozu je 6 Kaninchen (je drei männliche und weibliche) benötigt wurden,
in denen jeweils zwei (je ein männliches und weibliches) 1 ccm Antigen A, B
oder Kontrollantigen intramuskulär injiziert erhielten.

Aus folgender Übersicht sind die Versuchsreihen und die zugehörigen Num-
mern der Versuchstiere erkennbar.

Vers.Reihe	Antigen A	Antigen B	Kontrollantigen
I	1 (w), 2 (m)	3 (w), 4 (m)	5 (w), 6 (m)
II	7 (w), 8 (m)	9 (w), 10 (m)	11 (w), 12 (m)
III	13 (w), 14 (m)	15 (w), 16 (m)	17 (w), 18 (m)
IV	19 (w), 20 (m)	21 (w), 22 (m)	23 (w), 24 (m)

b) Technik der Ermittlung des Blutzellbildes.

Das Blutzellbild (Zellanalyse ohne Hämoglobin) wurde in der allgemein
lichen Technik ermittelt. Die Zahlen der roten und weißen Blutkörperchen
wurden in der Thoma-Zeiss-Kammer (Leukopipette, Blut 1:20 Türk'scher Lösung;
Thyropipette, Blut 1:200 Hayem'scher Lösung) festgestellt. Die Differenzie-
rung der Leukozyten erfolgte an Hand der Auszählung von 200 Zellen eines
nach Pappenheim gefärbten Blutausriches auf einem Objektträger (Wirth, 1950)
Die Blutproben hierzu wurden nach Anritzen einer Ohrvene direkt angesaugt. Die
Versuchungen erfolgten vor der Injektion, sowie in Abständen von 3, 6, 9

Stunden, 1, 2, 3, 4, 8, 12 und 18 Tage danach. Bei der Wiedergabe der Ergebnisse sind im allgemeinen nur die Abweichungen vom Normalstand, der vor der Injektion festgestellt war, berücksichtigt worden; der Normalstand stellt also graphisch die Nullkurve dar.

c) Technik der Elektrophorese.

Das Serum für die Elektrophorese wurde allwöchentlich einmal bis zur sechsten Woche nach der Injektion entnommen. Um ein von gelöstem Hämoglobin freies Serum zu gewinnen, habe ich eine große Ohrvene, beginnend an der Ohrspitze, ganz flach angeschnitten. Das Kaninchen wurde am Hinterlauf mit dem Kopf nach unten gehalten, sodass sich die Ohrvenen prall füllten. Das reichlich und schnell ausfließende Blut war nach einer halben Stunde bei Zimmertemperatur gut geronnen und schied blankes Serum aus, das zentrifugiert (15' bei 2000 U./min) und klar abgehebert wurde. Das im Kühlschrank aufgehobene Serum (ohne konservierende Zusätze) wurde möglichst bald verarbeitet.

Die elektrophoretische Trennung des Kaninchenserums wurde nach der Methode von Grassmann und Hannig (1952) mittels der "Elphor H" Apparatur durchgeführt. Es wurde mit einem Veronal-Natrium-Azetat-Puffer von der Ionenstärke $\mu=0,1$, pH=8,6 gearbeitet. Die Kammern mit der Pufferlösung wurden sowohl während der elektrophoretischen Versuche als auch in den Versuchspausen bei den ersten zwei Versuchsreihen im Kühlschrank, bei den letzten Versuchsreihen bei Zimmertemperatur (Slotta, 1954) aufbewahrt. Zwei Kaninchenserum wurden unter den oben angeführten Temperaturen mehrfach elektrophoretisch untersucht. Dabei konnte ein Unterschied in der Zerlegung, der auf einen Einfluss der Temperatur hätte zurückgeführt werden müssen, nicht festgestellt werden. Die elektrophoretische Trennung erfolgte auf dem Filterpapier der Fa. Schleicher und Schüll (Nr. 2043 a). Die Spannung an den Kammern betrug 110 Volt, die Versuchsdauer 14 Stunden. Anschliessend wurden die Streifen bei 100° C getrocknet, in einer gesättigten Lösung von Amidoschwarz 10 B in Methanol-Eisessig (1:10) gefärbt und in einer gleichartigen Methanol-Eisessig-Lösung wieder entfärbt. Von allen Seren

wurden unter gleichen Bedingungen Doppelbestimmungen durchgeführt. Um eine vollständigere Transparenz der Filtrierpapierstreifen zu erzielen, wurden sie in einen Rezipienten (Transpavad) verbracht, nach Evakuieren mit Anisol getränkt und dann noch für einige Stunden in derselben Flüssigkeit aufbewahrt.

Die photometrische Auswertung erfolgte nach Grassmann und Hannig (1952) in der Weise, daß die Streifen blasenfrei zwischen zwei Glasplatten gelegt und ihre Extinktionswerte am Photometer millimeterweise abgelesen wurden. Die Extinktionswerte wurden dann als Funktion der Weglänge auf Millimeterpapier aufgetragen und die so erhaltene Kurve in Gauss'sche Kurven zerlegt. Um eine bessere Charakterisierung der Fraktionen zu ermöglichen, wurden aus den Serumbildern der ersten Versuchsreihe "R Werte" errechnet (Boguth, 1953).

Es lag zwar schon eine Angabe über "R Werte" des normalen Kaninchenserums vor (Berg und Scheiffarth, 1954), die aber nicht auf die von mir erhaltenen Pherogramme anzuwenden war, weil sie wesentlich weniger Fraktionen enthielt.

Die Flächenbestimmung der einzelnen Fraktionen wurde mit dem zur "Elphor H"-Apparatur beigegebenen Planimeter durchgeführt. Jede Fläche wurde zweimal umfahren und aus den Mittelwerten die relativen Prozentgehalte der einzelnen Fraktionen berechnet. Der absolute Anteil jeder Fraktion eines Serums konnte aus ihrem relativen Prozentgehalt und dem Gesamteiweißgehalt desselben Serums (Kupfersulfatmethode nach van Slyke, 1951) errechnet werden.

3) Ergebnisse der Versuche

a) Ergebnis der Blutbilduntersuchung.

In die Kurven aufgenommen wurden zunächst außer den Leukozyten, Lymphozyten und Spezialgranulierten auch die Erythrozyten. Abb. 1 stellt ein solches vollständiges Kurvenbild dar, in dem die Normalwerte in der 0-Ordinate verzeichnet sind.

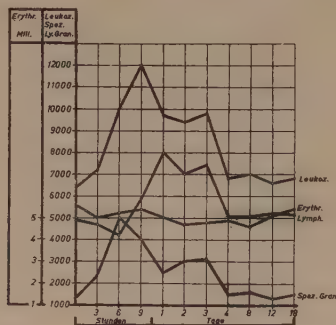


Abb. 1 Zellanalyse im Blut von Kaninchen Nr. 13
nach der Injektion von Antigen B

Da die Erythrozyten nur geringe Abweichungen erkennen ließen, sind von allen Kaninchen die Werte in einer resultierenden Kurve vereint, deren Normalwert im Scheitelpunkt des Koordinatensystems liegt. Außer einem ziemlich gleichmäßigen geringen Abfall der Zahl der roten Blutkörperchen im Verlaufe von 18 Tagen nach der Injektion in allen drei Versuchsgruppen zeigte die Kurve nichts Bemerkenswerthes (Abb. 2).

Für die resultierenden Kurven (Abb. 2, 9, 16, 23, 28) gilt folgende Kennzeichnung:

————— : Kaninchen mit Antigen A injiziert
 - - - - - : Kaninchen mit Antigen B injiziert
 : Kaninchen mit Kontrollantigen injiziert

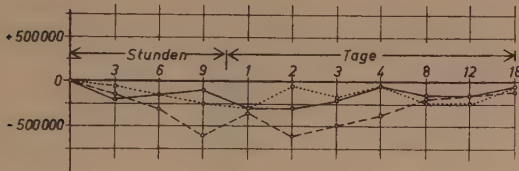


Abb. 2 Erythrozyten nach der Injektion von
 Antigen A (————)
 Antigen B (- - - - -)
 Kontrollantigen (.....)

Von den weißen Blutkörperchen zeigten die Eosinophilen, Basophilen und Monozyten, die nur in sehr geringen Mengen (0-6 %) vorhanden waren, praktisch keine Schwankung, so daß sich eine Aufzeichnung durch Kurven erübrigte. Hingegen traten bei den Leukozyten insgesamt, so wie bei den Lymphozyten und Spezialgranulierten im Zusammenhang mit den Injektionen große Schwankungen auf. Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind in Kurven niedergelegt. Um die Kurvenbilder nicht undeutlich zu gestalten, habe ich jeweils die Ergebnisse der beiden ersten und der beiden letzten Versuchsreihen in getrennten Abbildungen vereint, so daß unter Berücksichtigung der drei Injektionsflüssigkeiten für jede Sorte der weißen Blutkörperchen 6 Abbildungen notwendig wurden.

Deutliche Abweichungen treten im weißen Blutbild hervor. Die zu verschiedenen Zeiten festgestellten Werte nach Vorbehandlung mit den drei Antigenen sind für jedes Kaninchen in ein Koordinatensystem übertragen worden, wobei der Normalwert im Scheitel, die Zeit auf der Abszisse und die Abweichungen vom Normalwert auf die Ordinaten ober- oder unterhalb der Basis eingetragen wurden. Die durch Verbindung der experimentell

ermittelten Werte gewonnenen Kurven für die Gesamtleukozyten sind in den Abb. 3 - 8, für die spezialgranulierten Leukozyten in den Abb. 10 - 15 und für die Lymphozyten in den Abb. 17 - 22 wiedergegeben. Zusammengefaßt enthalten die Abb. 3 - 5, 10 - 12, 17 - 19 die Ergebnisse der Versuchsreihen I und II, die Abb. 6 - 8, 13 - 15, 20 - 22 diejenigen der Versuchsreihen III und IV. Getrennt sind aus den Einzelergebnissen resultierende Kurven für Leukozyten (Abb. 9), für spezialgranulierte Leukozyten (Abb. 16) und für Lymphozyten (Abb. 23) errechnet worden.

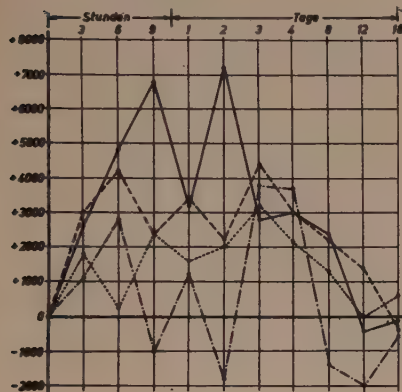
Die Kurven der erstgenannten experimentell festgestellten Ergebnisse sind in folgender Weise gekennzeichnet:

—————	: weibl. Kaninchen der Versuchsreihe	I (Nr. 1, 3, 5) und III (Nr. 13, 15, 17)
-----	: männl. Kaninchen der Versuchsreihe	I (Nr. 2, 4, 6) und III (Nr. 14, 16, 18)
.....	: weibl. Kaninchen der Versuchsreihe	II (Nr. 7, 9, 11) und IV (19, 21, 23)
-. - . - . - . - .	: männl. Kaninchen der Versuchsreihe	II (Nr. 8, 10, 12) und IV (Nr. 20, 22, 24)

aa) Das Verhalten der Leukozyten.

Abb. 3 - 5 Versuchsreihe I und II. Abb. 6-8 Versuchsreihe III und IV.
Kennzeichnung siehe Seite 18

nach Injektion von Antigen A

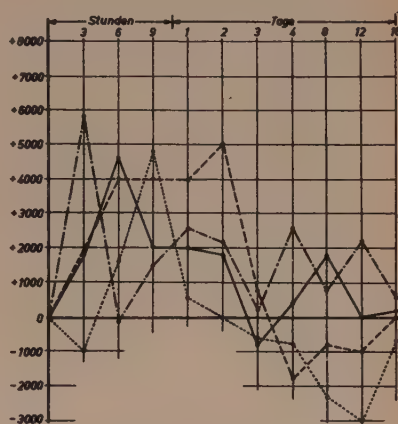


○ Nr. 1 und Nr. 7

○ Nr. 2 und Nr. 8

Abb. 3

nach Injektion von Antigen B

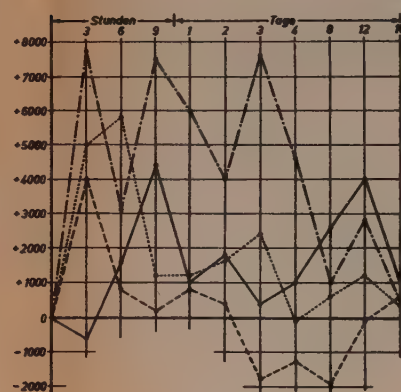


○ Nr. 3 und Nr. 9

○ Nr. 4 und Nr. 10

Abb. 4

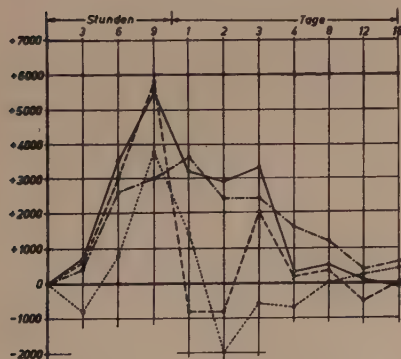
nach Injektion von Kontrollantigen



○ Nr. 5 und Nr. 11

○ Nr. 6 und Nr. 12

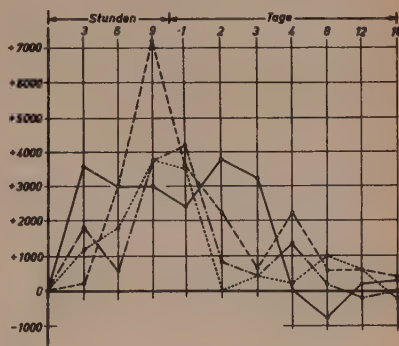
Abb. 5



○ Nr. 13 und Nr. 19

○ Nr. 14 und Nr. 20

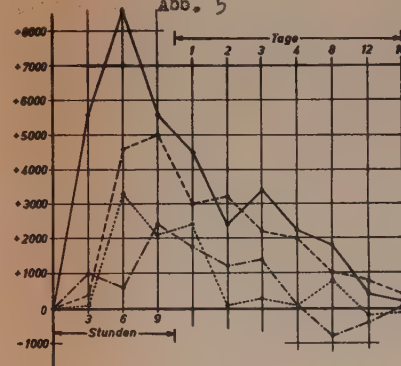
Abb. 6



○ Nr. 15 und Nr. 21

○ Nr. 16 und Nr. 22

Abb. 7



○ Nr. 17 und Nr. 23

○ Nr. 18 und Nr. 24

Abb. 8

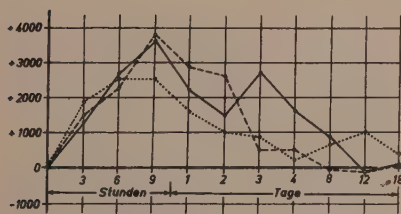


Abb. 9 Leukozyten nach der Injektion von

Antigen A (—)

Antigen B (---)

Kontrollantigen (....)



Die vorstehend dargestellten Einzelkurven lassen erkennen, daß innerhalb der drei Versuchsgruppen erhebliche Schwankungen in der Anzahl der Gesamtleukozyten bestehen. Ebenfalls treten regelmäßige Unterschiede in der Reaktion der männlichen und weiblichen Tiere nicht hervor.

Aus den Einzelkurven der drei Versuchsgruppen wurde die jeweilige resultierende Kurve berechnet. Diese Kurven zeigten bei allen Gruppen einen Anstieg der Leukozyten, der bei den mit Antigenen A und B (mit Brucellen) geimpften Tieren am höchsten stieg und bei Antigen A am längsten bestand, während er bei den mit Kontrollantigen (ohne Brucellen) behandelten Tiere am niedrigsten blieb und auch am schnellsten zurückging.

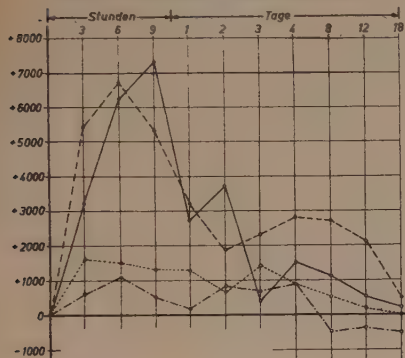


bb) Das Verhalten der spezialgranulierten Leukozyten.

Abb. 10-12 Versuchsreihe I und II Abb. 13-15 Versuchsreihe III und IV

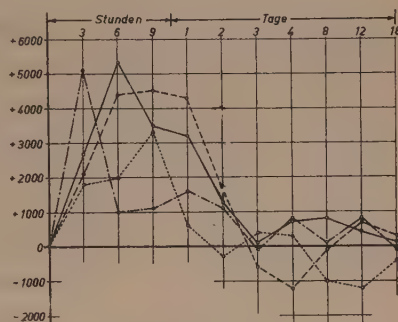
Kennzeichnung siehe Seite 18

nach Injektion von Antigen A



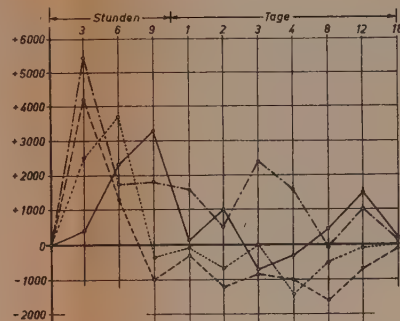
Kan.Nr. wie Abb. 3
Abb. 10

nach Injektion von Antigen B

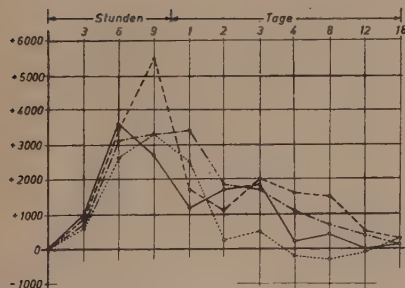


Kan.Nr. wie Abb. 4
Abb. 11

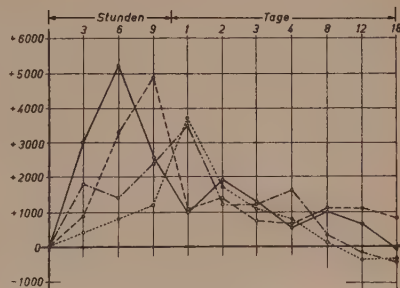
nach Injektion von Kontrollantigen



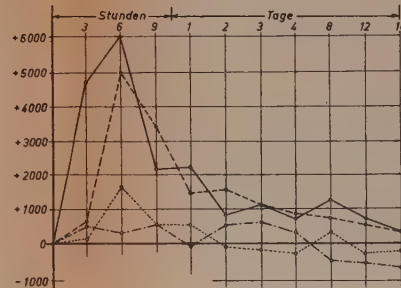
Kan.Nr. wie Abb. 5
Abb. 12



Kan.Nr. wie Abb. 6
Abb. 13



Kan.Nr. wie Abb. 7
Abb. 14



Kan.Nr. wie Abb. 8
Abb. 15

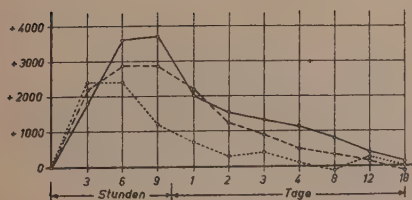


Abb. 16 Spezialgranulierte Leukozyten nach
der Injektion von
Antigen A (—)
Antigen B (—)
Kontrollantigen (....)

Ein erheblicher Anstieg der spezialgranulierten Leukozyten bis 4000 oder darüber tritt nach Vorbehandlung mit dem Antigen A bei beiden Kaninchen der Versuchsreihe I und III, sowie beim männlichen Kaninchen der Versuchsreihe IV auf. In gleicher Weise reagieren nach Vorbehandlung mit Antigen B beide Kaninchen der Versuchsreihe I und III und das männliche Kaninchen der Versuchsreihe II, sowie nach Vorbehandlung mit dem Kontrollantigen die beiden Kaninchen der Versuchsreihe III und die männlichen Kaninchen der Versuchsreihe I und II.

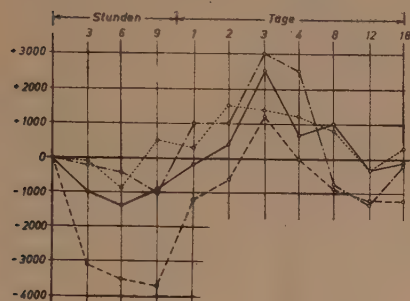
Die aus den Einzelwerten berechneten resultierenden Kurven der spezialgranulierten Leukozyten (Abb. 16) lassen erkennen, daß ein relativ steiler Anstieg von einem allmählich verlaufenden Abfall gefolgt war. Der stärkste Anstieg war bei den mit Antigen A behandelten Kaninchen, der geringste bei den mit Kontrollantigen behandelten Kaninchen festzustellen.

cc) Das Verhalten der Lymphozyten.

Abb. 17-19 Versuchsreihe I und II, Abb. 20-22 Versuchsreihe III und IV

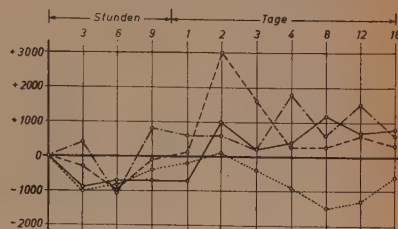
Kennzeichnung siehe Seite 18

nach Injektion von Antigen A



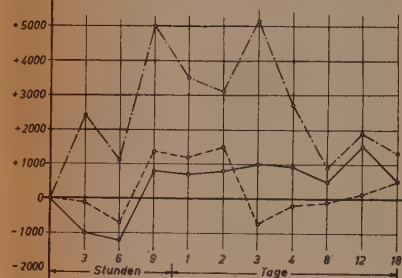
Kan.Nr. wie Abb. 3
Abb. 17

nach Injektion von Antigen B

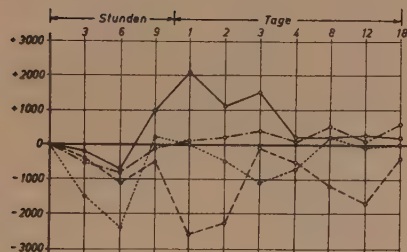


Kan.Nr. wie Abb. 4
Abb. 18

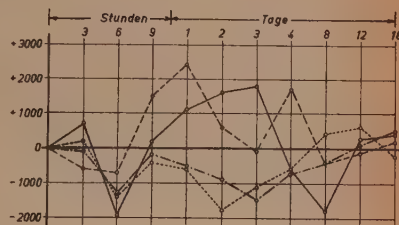
nach Injektion von Kontrollantigen



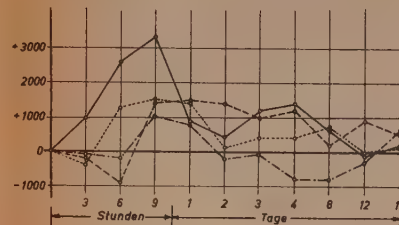
Kan.Nr. wie Abb. 5
Abb. 19



Kan.Nr. wie Abb. 6
Abb. 20



Kan.Nr. wie Abb. 7
Abb. 21



Kan.Nr. wie Abb. 8
Abb. 22

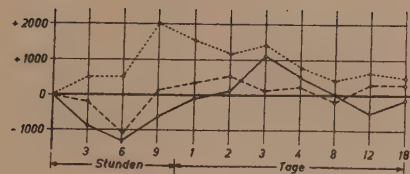


Abb. 23 Lymphozyten nach der Injektion von
Antigen A (—)
Antigen B (---)
Kontrollantigen (.....)

In Abweichung von den Leukozyten und spezialgranulierten Leukozyten liegen die Werte der Lymphozyten zu einem erheblichen Anteile unterhalb der Grundlinie, d.h. die Lymphozytenzahl nimmt nach der Injektion, besonders von Brucellen, schnell ab, ohne daß das Geschlecht der Versuchstiere oder Unterschiede der Trägerflüssigkeit (mit oder ohne $\text{Al}(\text{OH})_3$) von Bedeutung zu sein scheinen. Die Trägerflüssigkeit allein scheint einen geringeren Lymphozytenabfall zu bewirken. Besonders deutlich tritt das in der Abb. 23 hervor, in der die resultierenden Kurven der drei Vorbehandlungen verzeichnet sind.

b) Ergebnis der elektrophoretischen Serumwerte.

aa) Berechnung der "R-Werte" des Kaninchenserums.

Um die Veränderungen der elektrophoretischen Serumwerte nach einer immunisierenden Injektion festzustellen, wurden zunächst die Werte des normalen Kaninchenserums gemessen. Die Angaben der einzelnen Autoren (siehe Seite 10) differierten sehr stark. Meinen Werten (Durchschnitt von 24 Kaninchen: Albumin = 58,7%, α Globulin = 16,9 %, β Globulin = 13,3 % und γ Globulin = 11,1 % am nächsten lagen die Angaben von Scheiffarth und Berg (1954). Die Ursache der Differenzen ist vielleicht darin zu suchen, daß die anderen Autoren die Kaninchenserum in einer Tiselius- oder Antweiler-Apparatur zerlegt haben, während Scheiffarth und Berg, wie ich die Papirelektrophorese anwandten.

Die Seren zerlegten sich meist sehr deutlich in 1 Albumin-, 3 α Globulin-, 2 β Globulin und 1 γ Globulinfraktion. Die Globulinfraktion war nicht allenthalben makroskopisch deutlich in 3 Abteilungen getrennt. Zur Vereinfachung bei der Zerlegung der Kurve in Gauss'sche Kurven habe ich zunächst die "R-Werte", d.h. die relative Beweglichkeit der Fraktionen, berechnet, indem ich die von der ersten Versuchsreihe erhaltenen Pherogramme zwanglos und vollständig in Gauss'sche Kurven zerlegte. Von den Gipfelpunkten der jeweiligen Gauss'schen Kurve wurde das Lot gefällt, und die erhaltenen Abszissenwerte des Albumins und Globulins als Anfangs- und Endpunkte (G_A und G_γ) genommen. Die Gipfelpunkte der dazwischenliegenden Einzelfraktionen wurden als G_x bezeichnet. Zur Bestimmung

der relativen Beweglichkeit der Fraktion G_x wird nunmehr die dazugehörige Abszissenstrecke $G_x - G_y$ in Prozent der Strecke $G_y - G_A$ ausgedrückt (Scheiffarth und Berg, 1954).

$$\text{Relative Beweglichkeit} = \frac{G_x - G_y}{G_y - G_A} \times 100$$

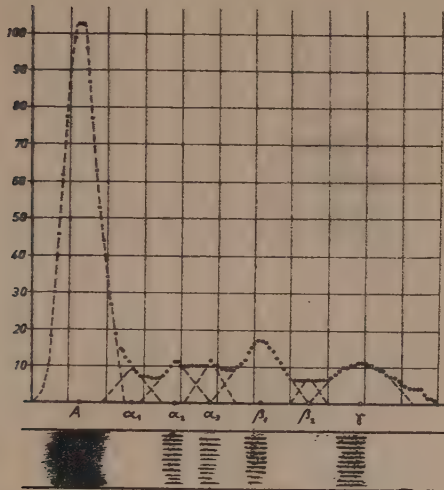


Abb. 24 ^Elektrophoretische Serumentrennung eines normalen Kaninchenserums

Das Ergebnis der Berechnung der relativen Beweglichkeit ("R-Werte") ist folgendes:

Scheiffarth und Berg:

$$\begin{aligned} \gamma &= 0 \\ \beta &= 27,5 \pm 3,75 \\ \alpha_2 &= 42,5 \pm 5 \\ \alpha_1 &= 57,1 \pm 5 \\ A &= 100 \end{aligned}$$

Eigene Untersuchungen:

$$\begin{aligned} \gamma &= 0 \\ \beta_2 &= 18,5 \pm 2 \\ \beta_1 &= 35,4 \pm 5 \\ \alpha_3 &= 53,7 \pm 4 \\ \alpha_2 &= 65,8 \pm 5 \\ \alpha_1 &= 79,6 \pm 4 \\ A &= 100 \end{aligned}$$

Nunmehr konnten alle Kurven mit Hilfe der relativen Beweglichkeit zerlegt werden, die relativen Prozentgehalte der einzelnen Fraktionen berechnet und dann als "absolute Prozentgehalte" des Gesamteiweisses ausgedrückt werden.

Wie schon anfänglich erwähnt, kam es mir vor allem auf das Verhalten der Gammaglobuline an, der sogenannten Immungammaglobuline. In den Abbildungen 25-27 wird nun das Verhalten des relativen Prozentgehaltes an Gammaglobulin nach der Injektion dargestellt.- Auch in diesen Kurven ist wieder des besseren Vergleiches halber der Ausgangswert gleich 0 gesetzt worden. Dieser wurde bestimmt aus den Mittelwerten von zwei Serumproben, die im Abstand von 8 Tagen bei den jeweiligen Kaninchen vor der ersten Injektion gewonnen waren.

bb) Das Verhalten des Gammaglobulins

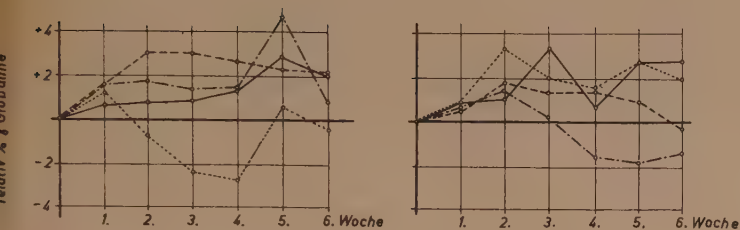


Abb. 25

I. u. II. Versuchsreihe

III. u. IV. Versuchsreihe

Relativer Prozentgehalt des Gammaglobulins nach der Injektion von
Antigen A

Kennzeichnung siehe Seite 18

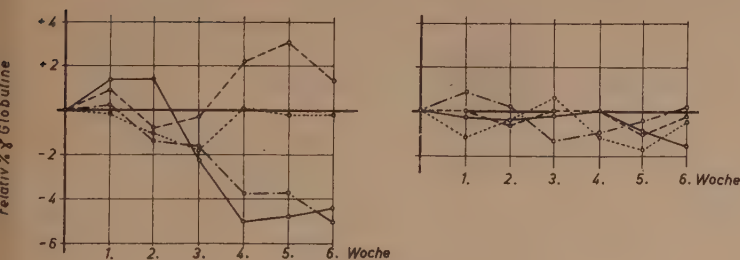


Abb. 26

I. u. II. Versuchsreihe

III. u. IV. Versuchsreihe

Relativer Prozentgehalt des Gammaglobulins nach der Injektion von
Antigen B

Kennzeichnung siehe Seite 18



Abb. 27

I. u. II. Versuchsreihe III. u. IV. Versuchsreihe
 Relativer Prozentgehalt des Gammaglobulins nach der Injektion von
 Kontrollantigen
 Kennzeichnung siehe Seite 18

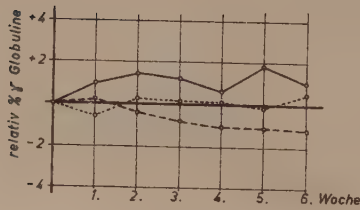


Abb. 28

Relativer Prozentgehalt des Gammaglobulins nach der Injektion von
 Antigen A (—)
 Antigen B (---)
 Kontrollantigen (....)

Wie man aus allen Kurvenbildern ersieht, kann man von einer Steigerung der Gammaglobuline nach der immunisierenden Injektion kaum sprechen. Bei den mit Antigen A injizierten Kaninchen ist zwar durchweg eine Steigerung von 1-3% zu finden. Bei den mit Antigen B und Kontrollantigen injizierten schwankt der Gehalt um 1%, abgesehen von zwei Kaninchen (Kan.Nr. 3 und 10), bei denen der Gammaglobulingehalt in der dritten Woche stark abfällt.

Die resultierenden Kurven der Gammaglobulinwerte lassen bei Vorbehandlung mit Antigen A eine geringfügige Erhöhung, mit Antigen B eine etwas kleinere Verminderung erkennen, während der Gammaglobulingehalt der mit Kontrollantigen injizierten Kaninchen geringfügig um die Basis schwankt. Der geringfügige Abfall des Gammaglobulins nach Injektion von *Brucella abortus* in physiologischer Kochsalzlösung ist nicht zu erklären, scheint aber durch den Ausfall bei den Kaninchen Nr. 3 und 10 zustande gekommen zu sein.

4) Besprechung der Ergebnisse

Aus den Angaben über die Reaktionsweise des hämatopoetischen Systems auf gesetzte Reize geht hervor, daß die Reaktionen vor allen Dingen in Veränderungen im weißen Blutbild sichtbar werden. Angesichts der starken Schwankungen der Werte bei den einzelnen Kaninchen können einer Besprechung der Ergebnisse nur die resultierenden Kurven zugrunde gelegt werden. Der von Schermer (1954) beschriebene Leukozytensturz nach einer Reizsetzung, in diesem Falle mit Pyrifer, tritt sehr bald nach der Injektion ein. Schon nach 3-4 Stunden setzt dann eine Vermehrung der Leukozyten ein. Die erste Blutbilduntersuchung meiner Kaninchen drei Stunden nach der Injektion der Antigene A und B und des Kontrollantigens ergab schon einen Anstieg der Gesamtzahl der Leukozyten, insbesondere getragen von den Spezialgranulierten, wobei jedoch das Aluminiumhydroxyd-Gel in physiologischer Kochsalzlösung nur etwa 2/3 des Wertes erzielte, der von den anderen, bakterielles Antigen enthaltenden Flüssigkeiten erreicht wurde. Der Anstieg der Spezialgranulierten nach Applikation der brucellen-

freien Flüssigkeit war nur von kürzerer Zeit. Diese beiden Tatsachen deuten darauf hin, daß Aluminiumhydroxyd allein injiziert war einen gewissen Reiz setzt, der aber geringer ist, als wenn noch Bakterien hinzugefügt werden. Bei der Mehrbildung der Spezialgranulierten handelt es sich wohl um das von Ber (1938/39) beschriebene neutrophile Stadium des Kampfes. Die von ihm erwähnte monozytäre Phase der Verteidigung konnte ich in meinen Untersuchungen nicht feststellen. Die Zahl der Monozyten schwankte immer im Bereich von 2-6%.

Eindeutig durch *Brucella* bedingt war der Lymphozytenabfall, der bei Injektion von *Brucella* + Aluminiumhydroxyd größer als bei *Brucella* in physiologischer Kochsalzlösung war. Während die Injektionen von Aluminiumhydroxyd in physiologischer Kochsalzlösung einen sofortigen Anstieg der Lymphozyten bedingte, trat dieser bei den beiden anderen Injektionsflüssigkeiten durchweg erst nach 6 Stunden ein, vergleichbar mit Bers (1938/39) lymphozytärem Stadium der Genesung.

Die basophilen und eosinophilen Leukozyten schwankten im Laufe der Untersuchungen immer im Bereich von 0-6%.

Während nach der Injektion der verschiedenen Antigene Veränderungen innerhalb des Blutzellbildes eintraten, und eine gewisse Regelmäßigkeit der Reaktion bei den einzelnen Versuchsgruppen festgestellt werden konnte, war an den elektrophoretisch feststellbaren Serumweißfraktionen nach Applikation der Antigene keine sichtbare Reaktion zu erkennen. Tiselius (1939) stellte fest, daß bei Kaninchen die Immunglobuline, d.h. die Antikörper, an die Gammaglobulin-Fraktion gebunden sind. Da es bei den in meinen Untersuchungen verwendeten Kaninchen infolge der Antigeninjektion zur Ausbildung von nachweisbaren Agglutininen gekommen war (Ridder, 1957), hätte also auch eine Steigerung des Gammaglobulinanteils in den entsprechenden Seren erwartet werden können. Der durchschnittliche Agglutinationstiter betrug 1:640. Bei den mit Antigen A behandelten Kaninchen hielt sich dieser Titer über eine lange Zeit in dieser Höhe und fiel dann ganz allmählich ab, während er bei den mit Antigen B behandelten Kaninchen genauso schnell stieg um dann aber viel plötzlicher zu sinken. Eine Erklärung für das

ausbleiben der Steigerung der Gammaglobuline kann vielleicht darin gesehen werden, daß absichtlich auf sehr starke Reize zur Antikörperbildung aus den eingangs erwähnten Gründen verzichtet worden ist. Die im Reagenzglas nachgewiesene Steigerung der Agglutinationswerte müßte dann im Bereich des normalen, d.h. des vor dem Reiz bestehenden Gammaglobulingehaltes, Platz gefunden haben.

Ein gewisser Hinweis, daß ein stärkerer Antigenreiz bei meinen Versuchstieren zusätzlich eine Bildung von Immunglobulinen brachte, könnte folgender sein. Nach Abschluß der zweiten Versuchsreihe brach in dem benachbarten Bestande Pasteurellose aus. Die Kaninchen aus meinem, zu dieser Zeit abgeschlossenen Versuche, erkrankten zwar nicht sichtlich, zeigten aber alle einen Gammaglobulin-Anstieg von 8-10% in ihrem Blutserum. Hierfür gab es keine andere Erklärung außer der Annahme einer still verlaufenden Pasteurellose. Mit diesem Hinweis auf die von mir verwendeten sehr niedrigen parenteralen Reize ist eine bündige Erklärung nicht gegeben. Hierzu würden noch Versuche notwendig sein, in denen der Reiz, sei es durch höhere Bakterienmengen, sei es durch wiederholte Injektionen, verstärkt wird.

Geschlechtsgebundene Unterschiede konnten weder in den Untersuchungen des Blutbildes noch denen der Eiweißfraktionen festgestellt werden.

5) Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde die Beeinflussung des Blutbildes und der elektrophoretisch feststellbaren Serumwerte des Kaninchens durch Injektion von Aluminiumhydroxyd mit und ohne Zusatz eines bakteriellen Antigens (*Brucella abortus*) dargestellt. 8 Kaninchen wurden mit Bakterien-suspension + Aluminiumhydroxyd, weitere 8 mit Bakteriensuspension + physiologischer Kochsalzlösung und schließlich zur Kontrolle 8 nur mit Aluminiumhydroxyd + physiologischer Kochsalzlösung geimpft.

In den, in zunehmenden Intervallen über 18 Tage hin durchgeführten Blutbilduntersuchungen ließen sich wesentliche Abweichungen im roten Blutbild nicht feststellen. Trotz beträchtlicher individueller Schwankungen bei den einzelnen Versuchstieren war jedoch innerhalb der Gruppen eine gewisse Regelmäßigkeit der Reaktion des weißen Blutbildes zu erkennen. Die allgemein einsetzende Leukozytose, besonders getragen von den spezialgranulierten trat am deutlichsten bei den mit bakteriellem Antigen behandelten Kaninchen auf, wobei sie sich am längsten nach Injektion der an Aluminiumhydroxyd adsorbierten Brucellen hielt. Aluminiumhydroxyd alleine bewirkte einen niedrigen und raschen Anstieg der Leukozyten. In der Lymphozytenzahl trat bei den mit Brucellen mit und ohne Adjuvans behandelten Kaninchen zunächst ein Abfall und erst später ein Anstieg ein, während das Adjuvans alleine einen sofortigen Anstieg verursachte.

Die Versuche zeigen, daß die Verwendung von Aluminiumhydroxyd als Adjuvans besondere Auswirkungen auf das Blutbild hinterläßt. Es ist jedoch nicht möglich, aus den vorliegenden Ergebnissen Rückschlüsse auf seine immunbiologische Bedeutung zu ziehen.

Das Serum der Kaninchen wurde allwöchentlich über 8 Wochen elektrophoretisch untersucht. Eine bedeutende Steigerung des Gammaglobulin-gehaltes wurde nicht festgestellt.

Die "R-Werte" des Kaninchenserums wurden berechnet.

C. Literaturverzeichnis

1. Ber, A.: Archiv intern. de Médecine exp. 13, 205 (1938/39)
2. Berg, G. u.
Scheiffarth, F.: Klin.Wschr. 32, 472 (1954)
3. Boguth, W.: Naturwissenschaften 1, 22 (1953)
4. Cohrs, P. und
Schulte, F.: Mh. Vet. Med. 6, 105 (1951)
5. Deutsch, H. F. u.
Goodloe, M. B.: J. of Biol. Chem. 161, 1 (1945)
6. Edsall, J. T.: Adv. Protein Chem. 3, 383 (1947)
7. Eisler, M. u.
Eibl, H.: Med. Klinik, Wien 4, 441 (1949)
8. Freund, J.: J. Immunol. 60, 383 (1948)
9. Grassmann, W. u.
Hannig, K.: Zschr. physiol. Chemie 290, 1 (1952)
10. Heidelberger, M.: Nature, London 138, 165 (1936)
11. Henneberg, G.: Zbl. Bakt. 167, 4 (1956)
12. Joachim: Pflügers Archiv f. d. ges. Physiol. d. Menschen u.
Tiere 23, 558 (1903)
13. Klieneberger, H.: Blutmorphologie der Laboratoriumstiere
2. Aufl. Joh. Ambr. Barth Verlag, Leipzig, 1927
14. Ridder, B.: Persönliche Mitteilung (1957)
15. Roots, E.: Mh. Vet. Med. 4, 68 (1948)
16. Scheiffarth, F. u.
Berg, G.: Zschr. f. d. ges. Exper. Med. 119, 550 (1952)
17. Schermer, S.: Blutmorphologie der Laboratoriumstiere
1. Aufl. Joh. Ambr. Barth Verlag, Leipzig, 1954
18. Schlüter, R.: Diss. med., Bonn (1951)
19. Schmidt, H.: Fortschritte der Serologie, 2. Aufl. Dr. Dietrich
Steinkopff Verlag, Darmstadt, 1955
20. Sharp, J. G., Taylor, A. R.
Beard, D. u. Beard, J. D.: J. Immunol. 44, 115 (1942)
21. Slotta, K.: Zschr. physiol. Chemie 296, 141 (1954)
22. Slyke van: Handbuch der Inneren Medizin, Band II.
4. Aufl. Springer Verlag, Berlin (1951)
23. Smith, W.: J. Path. Bact. 35, 509 (1932)

24. Stöckl, W. u.
Zachel, M.K.: Zschr. physiol.Chemie 289, 233 (1952)
25. Stürmer, K.: Zschr.Exper.Med. 117, 359 (1951)
26. Tiselius, V. u.
Kabat, A.K.: J.Exper.Med. 69, 119 (1939)
27. Tramb, E.: Mh. Vet.Med. 10, 165 (1947)
28. Wadsworth, A.B.: J.Exper.Med. 25, 629 (1917)
29. Waldmann, O.G.: Zbl.Bakt. 148, 1 (1941)
30. Wilson, G.S. u.
Miles, A.A.: Principles of Bact. and Immunity
4.Aufl.Edward Arnold Verlag, London, 1955
31. Wirth, D.: Hämatologie unserer Haustiere
2.Aufl.Urban & Schwarzenberg Verlag,
Wien und Innsbruck, 1950.

Am Schluß meiner Arbeit möchte ich mich bei

Herrn Professor Dr. Roots ergebenst für die liebenswürdige Überlassung des Themas und für die Bereitstellung des Materials bedanken.

Ebenfalls danke ich Herrn Professor Dr. Haupt für seine freundliche Unterstützung bei meiner Arbeit.

Lebenslauf.

Am 9. September 1929 wurde ich, Annemarie Ribbentrop, als Tochter des Diplom Ingenieurs Ferdinand Ribbentrop und seiner Ehefrau Irmgard, geborene Pini, in Wetzlar geboren.

Die Volksschule besuchte ich zwei Jahre in Hagen/Westf. und anschließend zwei Jahre in Wetzlar/Lahn. Im Jahre 1940 wurde ich in das Städtische Realgymnasium für Mädchen in Wetzlar aufgenommen und bestand an derselben Schule im März 1950 die Reifeprüfung.

Im Wintersemester 1950/51 begann ich mit dem Studium der Veterinärmedizin in Giessen, wo ich im März 1953 das Physikum und im Frühjahr 1956 die Tierärztliche Prüfung bestand.

Anschließend betätigte ich mich für ein Jahr als Doktorandin im Tierseucheninstitut der Justus Liebig-Universität und absolvierte vom 15. Mai ab meine Praktikantenzeit in Ostrach (Hohenzollern).

Druck:
Stempel-Kreuter
Gießen